



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09278786 A**(43) Date of publication of application: **28.10.97**

(51) Int. Cl.

C07H 7/033
C08B 37/06
G01N 33/72

(21) Application number: **08110450**(22) Date of filing: **05.04.96**(71) Applicant: **POLA CHEM IND INC**

(72) Inventor: **NAKANISHI NOBORU**
YOSHIDA MAYUMI

**(54) CYANOMETHEMOGLOBIN REACTION
 AUGMENTING AGENT, AND COMPOSITION AND
 KIT CONTAINING THE SAME**

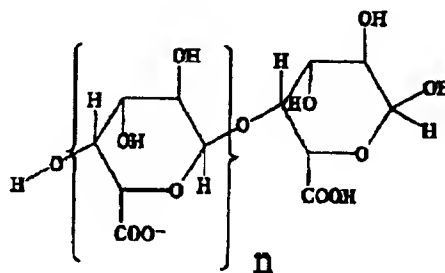
hemoglobin at a high sensitivity.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject reaction augmenting agent giving a reagent composition capable of performing a highly sensitive hemoglobin measurement by using pectin, galactulonic acid, an oligo-galactulonic acid, etc., for augmenting the reaction of cyanomethemoglobin.

SOLUTION: This cyanomethemoglobin reaction augmenting agent consisting of pectin, galacturonic acid and an oligo-galactulonic acid and/or salt thereof expressed by the formula [(n) is an integer of 0-12] is obtained by agitating pectin with a pectinase and water at 35°C for 1hr, performing ultrafiltration and lyophilizing to form a pectin hydrolysate, and then purifying it with ultrafiltration. By adding the cyanomethemoglobin reaction augmenting agent to a cyanomethemoglobin reagent, a blue coloring reaction at 680-685nm by the cyanomethemoglobin reaction is augmented and it becomes possible to measure



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-278786

(43) 公開日 平成9年(1997)10月28日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 H 7/033			C 0 7 H 7/033	
C 0 8 B 37/06			C 0 8 B 37/06	
G 0 1 N 33/72			G 0 1 N 33/72	A

審査請求 未請求 請求項の数6 F D (全 3 頁)

(21) 出願番号 特願平8-110450

(22) 出願日 平成8年(1996)4月5日

(71) 出願人 000113470

ポーラ化成工業株式会社
静岡県静岡市弥生町6番48号

(72) 発明者 中西 昇

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ
化成工業株式会社戸塚研究所内

(72) 発明者 吉田 真由美

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ
化成工業株式会社戸塚研究所内

(54) 【発明の名称】 シアンメトヘモグロビン反応増強剤及びそれを含有する組成物ならびにキット

(57) 【要約】 (修正有)

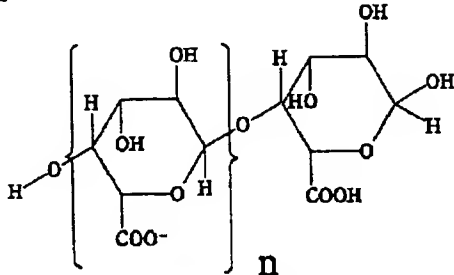
【課題】 高感度の高いヘモグロビンの測定法方法を提供する。

【課題の解決手段】 ベクチン、ガラクトチュロン酸、オリゴガラクトチュロン酸及び／又はそれらの塩からなるシアンメトヘモグロビン反応増強剤をシアンメトヘモグロビン試薬と混在させる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式 (I) に表される化合物及び／又はその塩からなるシアンメトヘモグロビン反応の増強剤。

【化1】



(式中nは0～12の整数を表す)

【請求項2】 一般式 (I) に於いてnが6である、請求項1記載のシアンメトヘモグロビン反応の増強剤。

【請求項3】 請求項1又は2記載のシアンメトヘモグロビン反応の増強剤を含有する、ヘモグロビン量測定キット。

【請求項4】 シアンメトヘモグロビン反応試薬に検体を添加することを特徴とする、一般式 (I) に表される化合物及び／又はその塩の定量法。

【請求項5】 シアンメトヘモグロビン反応試薬からなる、一般式 (I) 及び／又は生理的に許容されるこれらの塩の定量キット。

【請求項6】 ヘモグロビンの測定における一般式 (I) に表される化合物及び／又はこれらの塩の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ヘモグロビン発色試薬と後記一般式 (I) に表される化合物及び／又はこれらの塩の反応を利用した測定法に関する。

【0002】

【従来の技術】ヘモグロビンは既に多くの人に知られているように、体内における血液運搬の主役であり、その血液に於ける存在量は、疾病などの身体的異常がない限り恒常的に保たれている。従って、その存在量を測定することにより、身体的異常を知ることが出来る。この為、健康診断などに於いてはヘモグロビン量はフェリシアン化カリウムとシアン化カリウムによる発色を用いた、いわゆるシアンメトヘモグロビン法で測定されているが、感度の面で改良が望まれていた。これは、血液検査などに於いては測定項目が多岐に亘るため、1種の分析に用いる検体量を低減する必要があるためである。

【0003】一方、後記一般式 (I) に表される化合物及び／又はこれらの塩にシアンメトヘモグロビン反応を増強する作用があることは全く知られていなかった。

【0004】更に、後記一般式 (I) に表される化合物及び／又はこれらの塩の定量方法としては、カルバゾール反応或いはm-ヒドロキシジフェニル法による定量法

が知られているが、シアンメトヘモグロビン法で定量しうことは全く知られていなかった。

【0005】

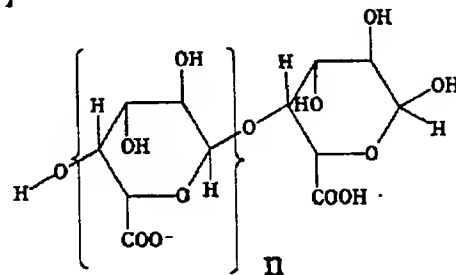
【発明が解決しようとする課題】本発明はこの様な状況下行われたものであり、感度の高いヘモグロビンの測定方法を提供することを課題とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者等はかかる状況に鑑みて、感度の高いヘモグロビンの測定方法を求めて鋭意研究を重ねた結果、一般式 (I) に表される化合物及び／又はこれらの塩にシアンメトヘモグロビン反応を増強させる作用があることを見だし、発明を完成させた。更に検討を重ねた結果、一般式 (I) に表される化合物及び／又はこれらの塩の定量がヘモグロビンの存在下シアンメトヘモグロビン反応を行わせることにより可能であることも見だし発明を拡充させた。以下、本発明について詳細に説明する。

【0007】

【化2】



(式中nは0～12の整数を表す)

【0008】

【発明の実施の形態】

(1) 本発明のシアンメトヘモグロビン反応の増強剤
本発明のシアンメトヘモグロビン反応の増強剤は上記一般式 (I) に表される化合物及び／又はこれらの塩からなる。この様な一般式 (I) に表される化合物としては、ペクチン、ガラクトuron酸、オリゴガラクトuron酸等が例示できる。これらの内好ましいものは、nが1～10のオリゴガラクトuron酸であり、より好ましいものはnが1～8のオリゴガラクトuron酸であり、更に好ましいものはnが1～6のオリゴガラクトuron酸である。これらのものは、ペクチンをペクチナーゼ等の酵素で加水分解することにより容易に得られる。更に加水分解物を限外濾過やゲル濾過で精製することにより、望む縮合度のものが得られる。

【0009】又、本発明で用いることの出来る一般式

(I) で表される化合物の塩としては、特段の限定は受けず、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩、カルシウムやマグネシウム等のアルカリ土類金属塩、アンモニウム塩、有機アミン塩、塩基性アミノ酸塩等が例示できる。

【0010】本発明では、一般式 (I) に表される化合

物及びこれらの塩から選ばれる1種乃至は2種以上をシアンメトヘモグロビン反応の増強剤として用いることが出来る。これらのシアンメトヘモグロビン反応の増強剤をシアンメトヘモグロビン反応に加えることによって、この反応による発色を増強する事、即ち、吸光度を大きくさせること及び色調を変化させることが出来る。

【0011】(2) 本発明のシアンメトヘモグロビン反応の増強剤の作用

本発明のシアンメトヘモグロビン反応の増強剤は、この反応によって生ずる発色を強めることが出来る。これによって、ヘモグロビンの検知感度を向上させることが可能である。従って、本発明の増強剤を用いればヘモグロビン定量に必要な検体の量を減量することが可能である。本発明の反応の増強剤は、シアンメトヘモグロビン反応に用いる希釈液中にフェリシアン化カリウムやシアン化カリウム等とともに配合しても良いし、市販のキットに添加しても構わない。

【0012】(3) 本発明の一般式(I)に表される化合物及び/又はこれらの塩の定量法

上記反応の増強作用を逆に利用すれば、一般式(I)に表される化合物及び/又はこれらの塩の定量方法としても用いることが可能である。即ち、一定量のヘモグロビン類の溶液にシアンメトヘモグロビン試薬と検体とを加え反応させ、その発色を比色法などで比色すればその発色の強さによって、検体中の一般式(I)に表される化合物及び/又はこれらの塩の含有量を知ることが出来る。この方法によればカルバゾール法と異なり、分子量即ちnの数によって発色が変わることがないので計測誤差が少ない。

【0013】

【実施例】以下に実施例を示して、本発明について詳細に説明するが、本発明がこれら実施例にのみ限定されないことは言うまでもない。

【0014】実施例1.

製造例1. ベクチン1Kgとベクチナーゼ50gと水5lを35℃で1時間攪拌し、限外濾過し凍結乾燥しベクチン加水分解物(反応増強剤1)を123g得た。更にこのものをゲル濾過により生成して、濃縮して、ガラクトuron酸(反応増強剤2)30g、2量体(反応増強剤3)11g、3量体(反応増強剤4)8g、4量体(反応増強剤5)5g、5量体(反応増強剤6)7g、6量体(反応増強剤7)5g、7量体(反応増強剤8)4g、8量体(反応増強剤9)3gを得た。

【0015】実施例2.

測定例

反応増強剤6をシアンメトヘモグロビン法試薬(ヘモグロビン-テストワコー:和光純薬工業(株)製)に添加したところ、青色の呈色を示した。この呈色は680~685nmにピークがあった。同じ系で鉄の添加効果を調べたところ、鉄が一定濃度存在すると再現良くこの呈色を観察した。この呈色反応による吸光度は、反応増強剤が存在しないときよりも非常に強いものであった。又、反応増強剤6の濃度と吸光度は良好な直線関係にあった。

【0016】実施例3.

測定例

反応増強剤2をシアンメトヘモグロビン法試薬(ヘモグロビン-テストワコー:和光純薬工業(株)製)に添加したところ、青色の呈色を示した。この呈色は680~685nmにピークがあった。同じ系で鉄の添加効果を調べたところ、鉄が一定濃度存在すると再現良くこの呈色を観察した。この呈色反応による吸光度は、反応増強剤が存在しないときよりも非常に強いものであった。又、反応増強剤2の濃度と吸光度は良好な直線関係にあった。

【0017】

【発明の効果】本発明によれば、感度の高いヘモグロビンの測定方法が提供できる。

